

# EXTRACTES VEGETALS INHIBIDORS DEL QUORUM SENSING EN *Pseudomonas aeruginosa* I LA SEVA APLICACIÓ CONTRA LA GENERACIÓ DE BIOFILMS

Marta Fernández Gatell

UAB  
Universitat Autònoma de Barcelona

Grau en Microbiologia

Introducció

Degut a l'aparició de moltes soques bacterianes patògenes resistents als tractaments convencionals i el repte que suposa tractar i eliminar biofilms, està guanyant protagonisme la cerca de noves estratègies per combatre les infeccions microbianes. Una de molt prometedora és la utilització d'inhibidors dels sistemes de senyalització bacteriana ja que controlen tant factors de virulència com diversos passos en el desenvolupament de biofilms. Una bona font per cercar aquestes substàncies inhibidores són les plantes ja que aquestes conviuen i interaccionen amb els microorganismes, així que, probablement, sintetitzin aquest tipus de compostos [1][2][3].

## Formació de biofilms

Els biofilms són la forma de vida principal de les cèl·lules microbianes, ja que els confereix un seguit d'avantatges per a la seva supervivència. Als humans, per això, ens causen grans problemes degut a la seva resistència a antibiòtics i la immunitat [4]. El QS és un dels encarregats d'orquestrar els gens involucrats en les diferents etapes de formació (Figura 1) d'un biofilm [5].

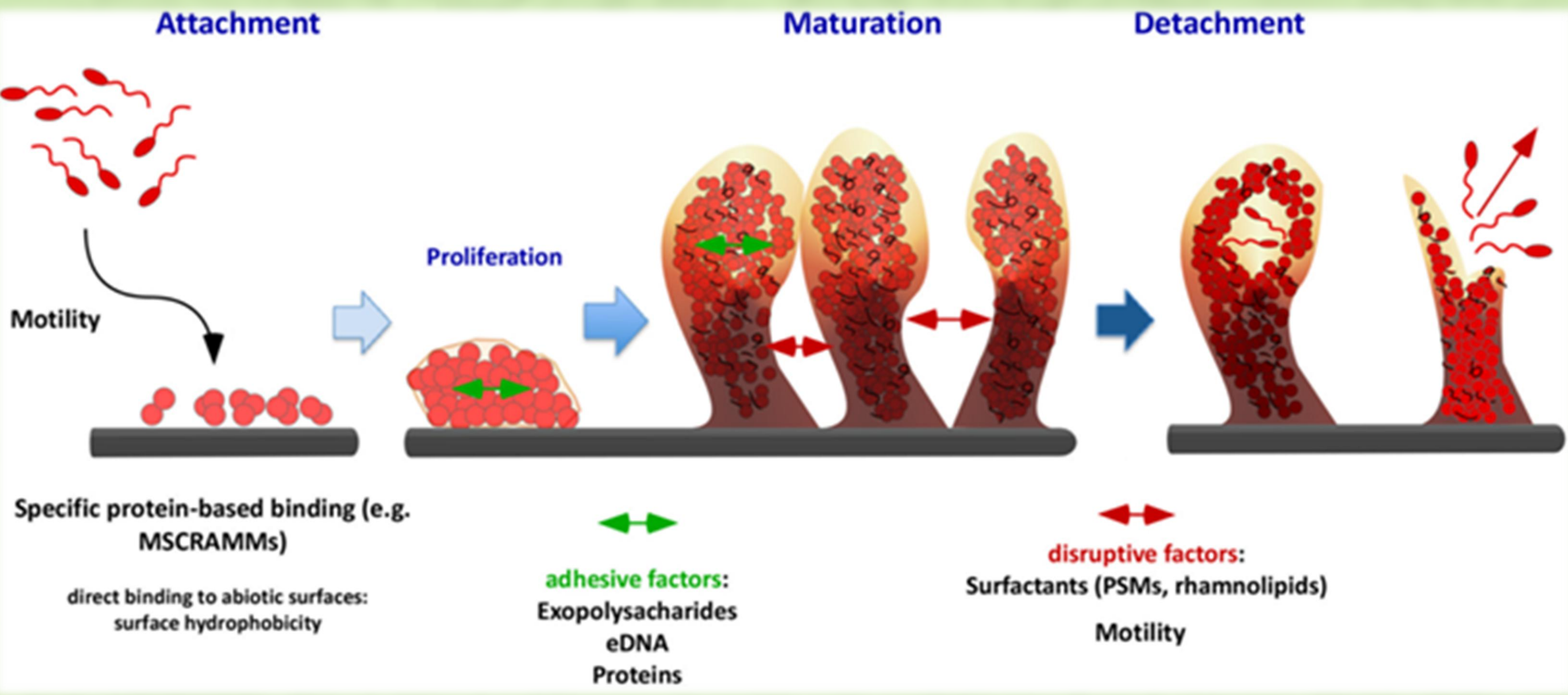


Figura 1. Passos en la formació d'un biofilm de *Pseudomonas aeruginosa* i factors involucrats. Adaptat de Joo *et al.*, 2012 [5]

### 1. Adhesió

Hi tenen un paper important la motilitat, els LPS de membrana i les lectines.

### 2. Proliferaió i maduració:

Augmenta l'expressió de gens involucrats en la síntesi d'exopolisacàrids (*pel*, *psl*, *arg*). També són importants l'eDNA i les proteïnes en la estructura de la matriu.

### 3. Disgregació:

Important per la dispersió i formació de canals. Es produeix gràcies als ramnolípids.

## Els sistemes de senyalització

Regulen una gran quantitat de gens en *P. aeruginosa*, inclosos factors de virulència i la formació de biofilms [6][7]. Els tres sistemes més relacionats amb aquests dos aspectes són (Figura 2):

- **AHL**: Sistemes Las (síntesi d'exotoxina A, elastases i proteases) i Rhl (síntesi de ramnolípids, piocianina i pioverdina) [7].
- **PQS**: relacionat amb els sistemes AHL i síntesi de piocianina [6]
- **GAC**: s'encarrega del pas d'una infecció aguda a crònica i a la inversa. Actua mitjançant la proteïna RsmA i els *small* RNA RsmY i RsmZ [6].

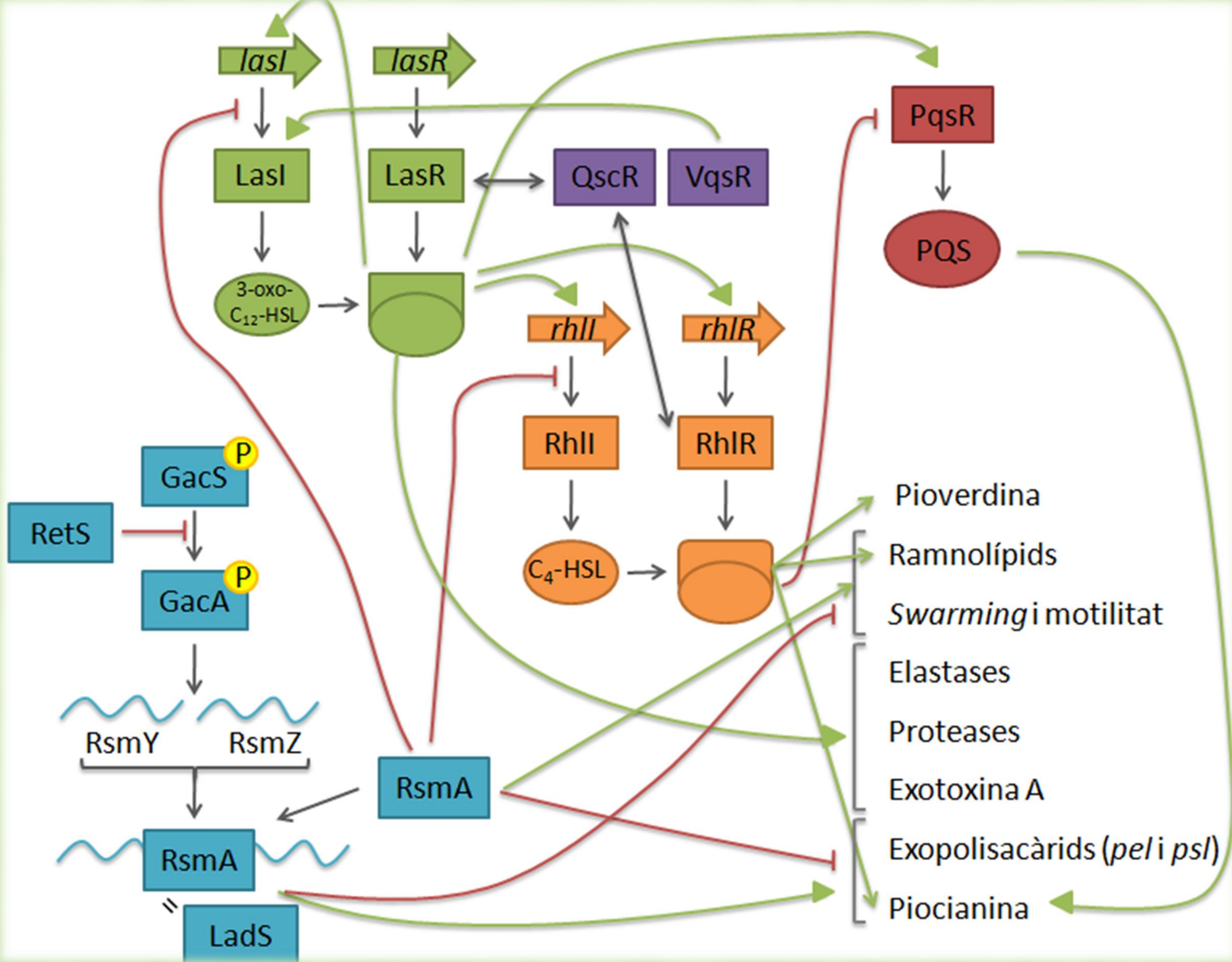


Figura 2. Esquematització dels sistemes de senyalització, la seva relació i els gens que controlen (les fletxes en vermell representen inhibició i en verd, activació).

## Extractes vegetals inhibidors de QS

Taula 1. Extractes vegetals amb activitat anti-QS i d'inhibició de biofilms.

	All [8]	Nabius [9]	<i>Psidium guajava</i> [10]	<i>Euphorbia hirta</i> [4]	<i>Combretum albiflorum</i> [3]	Rave picant [11]	<i>Capparis spinosa</i> [12]	<i>Terminalia catappa</i> [13]	Cúrcuma [14]
Molècula	Al·licina	Es desconeix	Quercetina i quercetina-3-o-arabinosida.	Es desconeix	Catequina	Iberina	Es desconeix	Tanins	Curcumina
Mecanisme d'acció	S'hipotetitzat la competició amb AHLs pel receptor	Es desconeix	S'hipotetitzat que inhibeixen la resposta a AHLs.	Inconcloent (activitat antimicrobiana o anti-QS)	Interferència en el sistema Rhl.	S'hipotetitzat el bloqueig entre C4-HSL i RhlR, també afecta a Las.	Es desconeix	Es desconeix	Es desconeix
Es redueixen o inhibeixen diferents gens controlats per quorum sensing (exopolisacàrids, motilitat, toxines i enzims extracel·lulars o ramnolípids).									
Efecte	El biofilm té una estructura pobre i fina (Figura 3)	El biofilm té una estructura pobre i fina. <i>In vivo</i> , el tractament profilàctic és efectiu.	La formació de biofilms s'inhibeix un 80%, però no la densitat cel·lular.	Inhibeix la formació de biofilms i pot eradicar els preformats.	Reducció de la transcripció de gens dels mecanismes de QS. El desenvolupament del biofilm és menor.	No té cap efecte en models <i>in vivo</i> .	La formació de biofilms és un 75% menor, amb una estructura feble. Pot disgregar un biofilm madur.	La formació de biofilm augmenta però és molt més sensible a compostos antimicrobians.	Redueix la biomassa del biofilm, que també és més prim i dèbil.

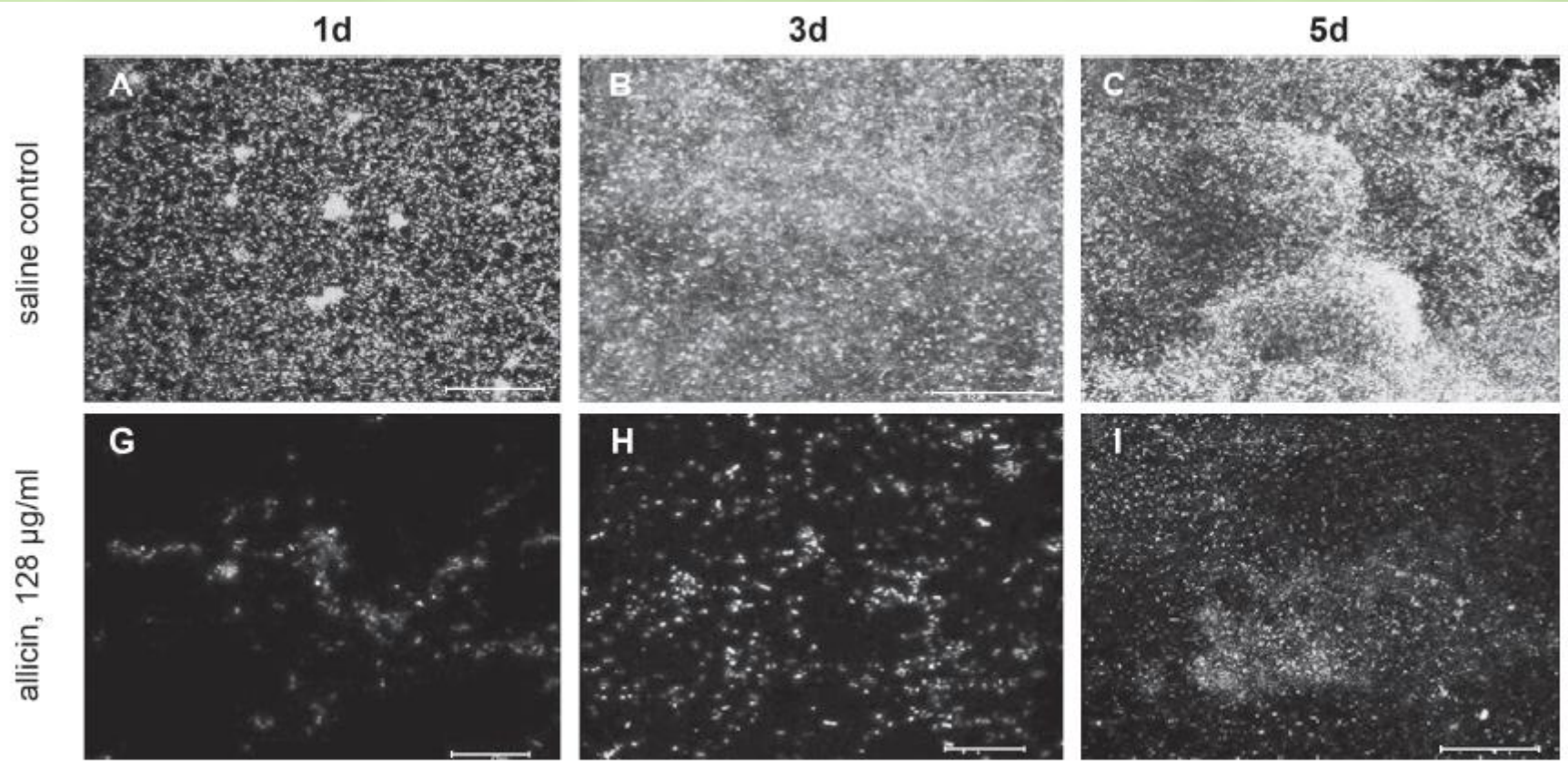


Figura 3. Comparació de la formació d'un biofilm en els dies 1, 3 i 5 en presència (G-I) i absència (A-C) d'al·licina. Adaptat de Lihua *et al.*, 2013. [8]

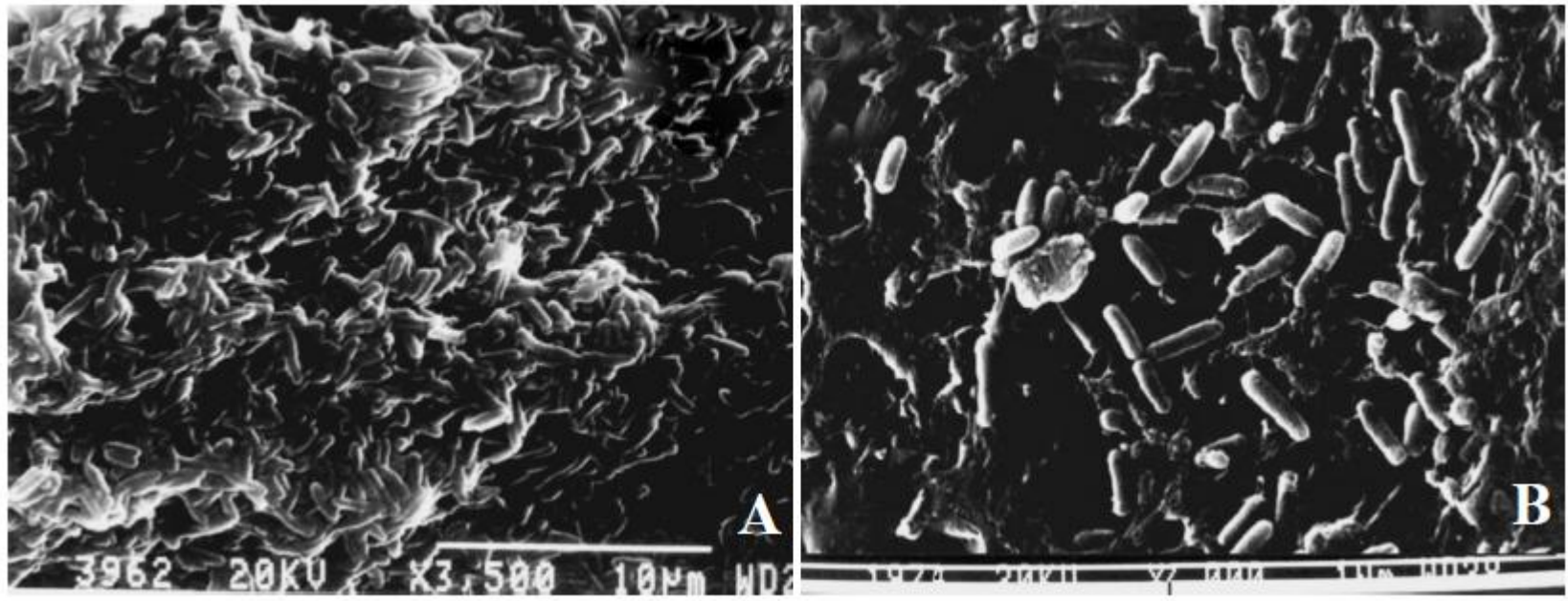


Figura 4. Efecte dels nabius en un biofilm. A: sense tractar; B: tractat. Extret de Harjai *et al.*, 2014 [9]

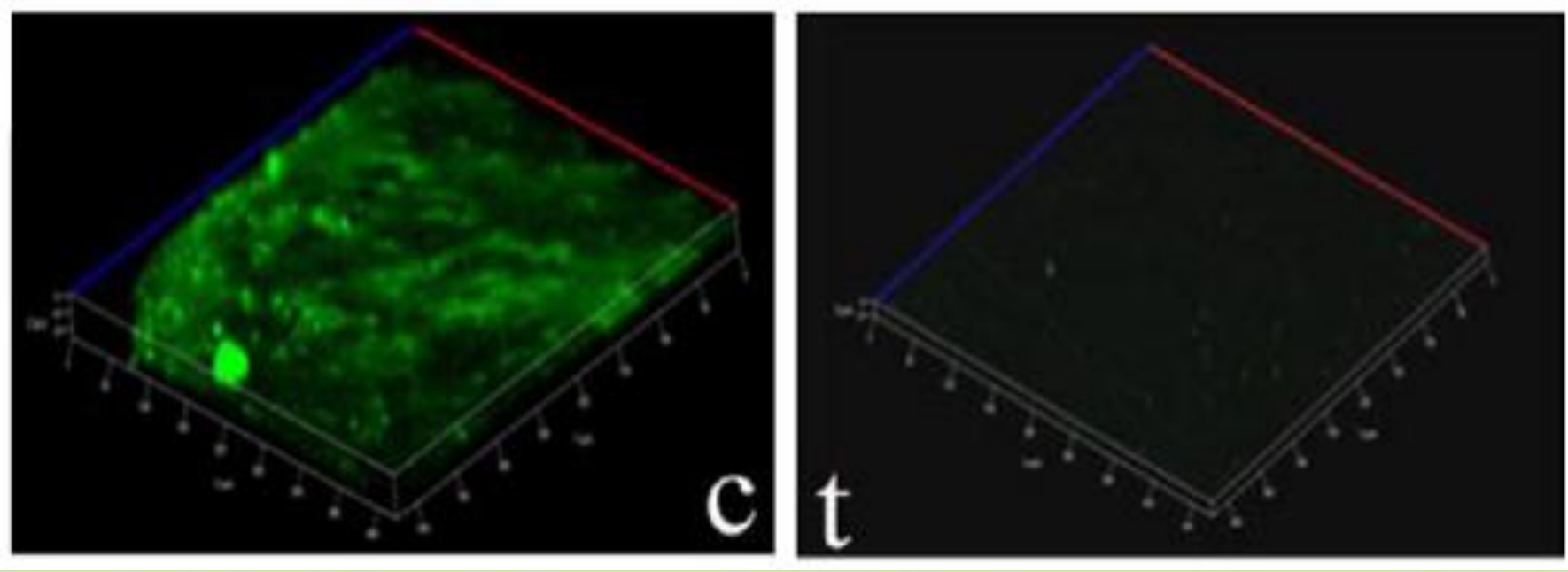


Figura 5. Efecte de *C. spinosa* en un biofilm madur. C: control; t: tractat amb l'extracte. Extret d'Abraham *et al.*, 2011. [12]

Conclusions

1. Els extractes vegetals aconseguirien **inhibir considerablement la formació de biofilms** fent-los més fins, dèbils i desestructurats degut a la reducció de l'expressió de gens controlats per QS.
2. Sovint es desconeix la substància responsable i en gairebé tots els casos el seu mecanisme d'acció. A més, **manquen estudis *in vivo*** per determinar quin seria l'efecte real.
3. De moment no es podrien utilitzar els extractes vegetals com una nova estratègia de tractament, sinó que **de manera combinada amb tractaments antimicrobians**.
4. Cal un **estudi més profund** dels mecanismes que regulen la formació de biofilms i dels mecanismes d'acció dels extractes vegetals per abordar més acuradament i completa la lluita contra les infeccions associades a biofilms.

Referències

[1] Rasmussen, T. B. & Givskov, M. Quorum-sensing inhibitors as anti-pathogenic drugs. *Int. J. Med. Microbiol.* 296, 149–61 (2006). [2] Hentzer, M. et al. Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* virulence by quorum sensing inhibitors. *EMBO J.* 22, 3803–15 (2003). [3] Vandeputte, O. M. et al. Identification of catechin as one of the flavonoids from *Combretum albiflorum* bark extract that reduces the production of quorum-sensing-controlled virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Appl. Environ. Microbiol.* 76, 243–53 (2010). [4] Perumal, S. & Mahmud, R. Chemical analysis, inhibition of biofilm formation and biofilm eradication potential of *Euphorbia hirta* L. against clinical isolates and standard strains. *BMC Complement. Altern. Med.* 13, 346 (2013). [5] Joo, H.-S. & Otto, M. Molecular basis of *in vivo* biofilm formation by bacterial pathogens. *Chem. Biol.* 19, 1503–13 (2012). [6] Jimenez, P. N. et al. The multiple signaling systems regulating virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 76, 46–65 (2012). [7] Jimenez, P. N. et al. The multiple signaling systems regulating virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 76, 46–65 (2012). [8] Lihua, L., Jianhui, W., Jialini, Y., Yayin, L. & Guanxin, L. Effects of allicin on the formation of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm and the production of quorum-sensing controlled virulence factors. *Pol. J. Microbiol.* 62, 243–51 (2013). [9] Harjai, K., Gupta, R. K. & Sehgal, H. Attenuation of quorum sensing controlled virulence of *Pseudomonas aeruginosa* by cranberry. *Indian J. Med. Res.* 139, 446–53 (2014). [10] Vasavi, H. S., Arun, A. B. & Rekha, P.-D. Anti-quorum sensing activity of *Psidium guajava* L. flavonoids against *Chromobacterium violaceum* and *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Microbiol. Immunol.* 58, 286–293 (2014). [11] Jakobsen, T. H. et al. Food as a source for quorum sensing inhibitors: iberin from horseradish revealed as a quorum sensing inhibitor of *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 2410–21 (2012). [12] Issac Abraham, S. V. P., Palani, A., Ramaswamy, B. R., Shunmugiah, K. P. & Arumugam, V. R. Antiquorum sensing and antibiofilm potential of *Capparis spinosa*. *Arch. Med. Res.* 42, 658–68 (2011). [13] Taganna, J. C., Quanicco, J. P., Perono, R. M. G., Amor, E. C. & Rivera, W. L. Tannin-rich fraction from *Terminalia catappa* inhibits quorum sensing (QS) in *Chromobacterium violaceum* and the QS-controlled biofilm maturation and LasA staphylolytic activity in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Ethnopharmacol.* 134, 865–71 (2011). [14] Packiavathy, I. A. S. V., Priya, S., Pandian, S. K. & Ravi, A. V. Inhibition of biofilm development of uropathogens by curcumin - an anti-quorum sensing agent from *Curcuma longa*. *Food Chem.* 148, 453–60 (2014).